

INFLUENCE DU PHOSPHORE, DU POTASSIUM, DE L'AZOTE
ET DU PH SUR LE COMPORTEMENT *IN VITRO*
DE CHAMPIGNONS ENDOMYCORRHIZOGÈNES
A VÉSICULES ET ARBUSCULES

par Françoise PONS et Vivienne GIANINAZZI-PEARSON*

RÉSUMÉ. — Le comportement des champignons endomycorhizogènes à vésicules et arbuscules *Glomus mosseae*, *G. epigaeus* et *Gigaspora margarita*, caractérisés par un bon pouvoir germinatif des spores, n'est pas influencé *in vitro* de façon analogue par les modifications du milieu. La concentration élevée en phosphore soit sous forme de KH_2PO_4 ou K_2HPO_4 n'inhibe pas la germination des spores de *G. margarita*, alors que les fortes concentrations diminuent la germination des spores de *G. epigaeus* comme la croissance de ses hyphes. Cependant, chez *G. margarita*, les fortes concentrations en K_2HPO_4 provoquent des perturbations dans la façon dont les spores germent (augmentation du nombre de tubes germinatifs) et inhibent aussi la croissance des hyphes de ce champignon. De plus l'addition de phosphore au milieu augmente la vitesse dans les hyphes des courants cytoplasmiques vers les spores. La germination des spores et la croissance des hyphes de *G. mosseae* diminuent en présence de KH_2PO_4 , indépendamment de la concentration de ce sel, tandis que K_2HPO_4 n'a pas d'effet négatif même à des concentrations élevées. L'azote n'a un effet inhibiteur qu'à fortes doses sous la forme de NH_4NO_3 uniquement chez *G. epigaeus* alors qu'il ne perturbe pas la germination et la croissance des hyphes lorsqu'il est apporté sous la forme de KNO_3 ou NH_4Cl . Les pH acides inhibent la germination des spores ainsi que la croissance des hyphes de *G. mosseae* tandis que *G. epigaeus* et *G. margarita* ne montrent pas une sensibilité semblable à des variations du pH du milieu.

SUMMARY. — The vesicular-arbuscular endomycorrhizal fungi *Glomus mosseae*, *G. epigaeus* and *Gigaspora margarita* are not influenced in the same way by modifications in the agar medium used to germinate their spores. High phosphorus concentrations, in the form of KH_2PO_4 or K_2HPO_4 , do not inhibit spore germination by *G. margarita* whilst they decrease both spore germination and hyphal growth of *G. epigaeus*. High amounts of K_2HPO_4 do, however, cause alterations in the pattern of spore germination of *G. margarita* (increased number of germ tubes), and also inhibit hyphal growth by this fungus; furthermore, cytoplasmic streaming towards the spore increases in hyphae with phosphate additions to the agar medium. All concentrations of KH_2PO_4 used inhibit both spore germination and hyphal growth of *G. mosseae* whilst K_2HPO_4 has no negative effect even at high concentrations. High concentrations of nitrogen in the form of NH_4NO_3 , but not KNO_3 or NH_4Cl , have a negative effect only on *G. epigaeus*. Low pHs inhibit spore germination and hyphal growth of *G. mosseae*, whilst *G. epigaeus* and *G. margarita* do not show a similar sensitivity to variations in pH.

* Laboratoire de Phytoparasitologie, Station d'Amélioration des Plantes, I.N.R.A. B. V. 1540, 21034 Dijon Cedex.

MOTS CLÉS : P, K, N, pH, champignons endomycorhizogènes, spores.

INTRODUCTION

Les champignons endomycorhizogènes à vésicules et arbuscules (VA) sont capables de réaliser la symbiose avec les racines d'un nombre considérable d'espèces végétales, en particulier les plantes agricoles. Cette association se révèle très efficace quant à la croissance des végétaux dans les sols relativement pauvres en éléments minéraux (MOSSE, 1972), mais son effet diminue si on compense la mauvaise fertilité du sol par un apport d'engrais phosphatés (SANDERS & TINKER, 1973; ASIMI & al., 1979). De nombreux travaux ont pour objet la connaissance de la plante mycorhizée considérée dans son ensemble (MOSSE, 1978; voir GIANINAZZI & al., 1982). Il serait pourtant intéressant de considérer le champignon seul dans la mesure où il est le point de départ de l'infection dans le sol. On ne sait pas encore réaliser de cultures pures de champignons endomycorhizogènes VA, au delà de la germination de leurs spores de conservation. Toutefois, les quelques observations faites à ce propos dans le cas de diverses espèces à spores germant sur différents milieux synthétiques ou contenant des extraits de sol, indiquent que, bien qu'appartenant à une famille très restreinte, ces champignons ont des exigences très précises quant aux pHs, température et concentrations de phosphate du milieu (GREEN, GRAHAM & SCHENK, 1976; DANIELS & GRAHAM, 1976; SIQUEIRA, HUBBELL & SCHENK, 1982; HEPPER, 1983). Afin de mieux connaître les conditions écologiques qui influenceraient le comportement des champignons endomycorhizogènes VA dans le sol, nous avons étudié l'effet du pH et de divers sels de phosphate, de potassium et d'azote sur la capacité de germination des spores et la croissance mycélienne de trois espèces de ces champignons.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les cultures de chaque espèce de champignon sont entretenues en utilisant comme plante-hôte l'oignon (*Allium cepa* L. var Hyper). Ces plantes sont mycorhizées dans du sol prélevé sur le Domaine d'Époisses de l'INRA de Dijon, ayant un pH de 7,0 à 7,8 et préalablement irradié aux rayons γ (1 Mrad). Les spores de conservation des champignons endomycorhizogènes VA sont récoltées à l'intérieur de sporocarpes attachés aux racines (*Glomus mosseae* (Nicol. et Gerd.) Gerdemann et Trappe), à la surface de la terre (*G. epigaeus*, Daniels et Trappe), au niveau du mycélium attaché aux racines (*Acaulospora laevis*, Gerdemann et Trappe), et dans la terre entourant les racines (*Gigaspora margarita*, Becker et Hall), (GERDEMANN & TRAPPE, 1974; BECKER & HALL, 1976; DANIELS & TRAPPE, 1979). Les spores sont utilisées immédiatement sauf *G. mosseae* pour lequel il est nécessaire de laisser les sporocarpes à 8°C pendant quatre semaines à l'obscurité, afin d'obtenir un bon taux de germination des spores.

Les spores sont désinfectées dans le mélange décrit par MOSSE (1959) (pour *G. margarita* nous avons utilisé 400 mg de sulfate de streptomycine/l) pendant 15 minutes puis rincées soigneusement à l'eau distillée stérile.

Les spores sont ensuite repiquées sur eau gélosée 0,5 % (pH 6,8) (Difco Bacto agar) seule ou additionnée de différents sels. Dans les expériences sur l'effet du phosphore et du potassium nous avons utilisé des milieux contenant 25, 50, 100 ou 200 ppm de phosphore sous forme de KH_2PO_4 (pH 5,8 à 5,9) et $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (pH 7,8 à 7,9). L'influence du pH est étudiée sur des milieux contenant 50 ppm de phosphore à pH 5,8, 6,2, 6,8, 7,5 ou 7,8 obtenus par des mélanges appropriés de KH_2PO_4 et $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$. Pour les expériences sur l'azote nous avons préparé des milieux avec 25, 50 et 100 ppm d'azote sous forme KNO_3 , NH_4NO_3 ou NH_4Cl .

Les spores sont mises à germer à l'obscurité dans une étuve à 24°C, et pour *G. epigaeus* aussi à 20°C. La germination des spores a été suivie *in vitro* à l'aide du microscope optique et le comptage effectué périodiquement sur une population de spores jusqu'à ce qu'il n'y ait plus de spores qui germent. Les mesures de la distance maximale atteinte par les hyphes, sont déterminées à l'aide d'un micromètre oculaire. Les courants cytoplasmiques ont été aussi estimés à l'aide d'un micromètre oculaire en mesurant la vitesse du déplacement du contenu granulaire des hyphes (environ à mi-distance entre l'apex et la spore) sur une longueur donnée. Les résultats ont été analysés statistiquement par la méthode de calcul de χ^2 ou le test « t » de Student.

RÉSULTATS

1. — POUVOIR GERMINATIF DES SPORES, CULTIVÉES SUR EAU GÉLOSÉE

Les spores récoltées dans les conditions décrites ci-dessus sont toutes capables de germer sur eau gélosée. Quelques caractéristiques des lots de spores étudiés dans nos expériences sont indiquées dans le tableau 1.

Tableau 1. — Diamètre des spores et section des hyphes au début de la germination des champignons endomycorhizogènes VA étudiés.

Table 1. — Spore and hyphae diameters of VA fungi at the beginning of spore germination.

	Diamètre des spores	Section des hyphes
<i>G. mosseae</i>	160 ± 32 μm	6 μm
<i>G. epigaeus</i>	108 ± 9 μm	4-8 μm
<i>G. margarita</i>	485 ± 35 μm	8-12 μm
<i>A. laevis</i>	221 ± 21 μm	6 μm

Nombre de répétitions : 30 à 40.

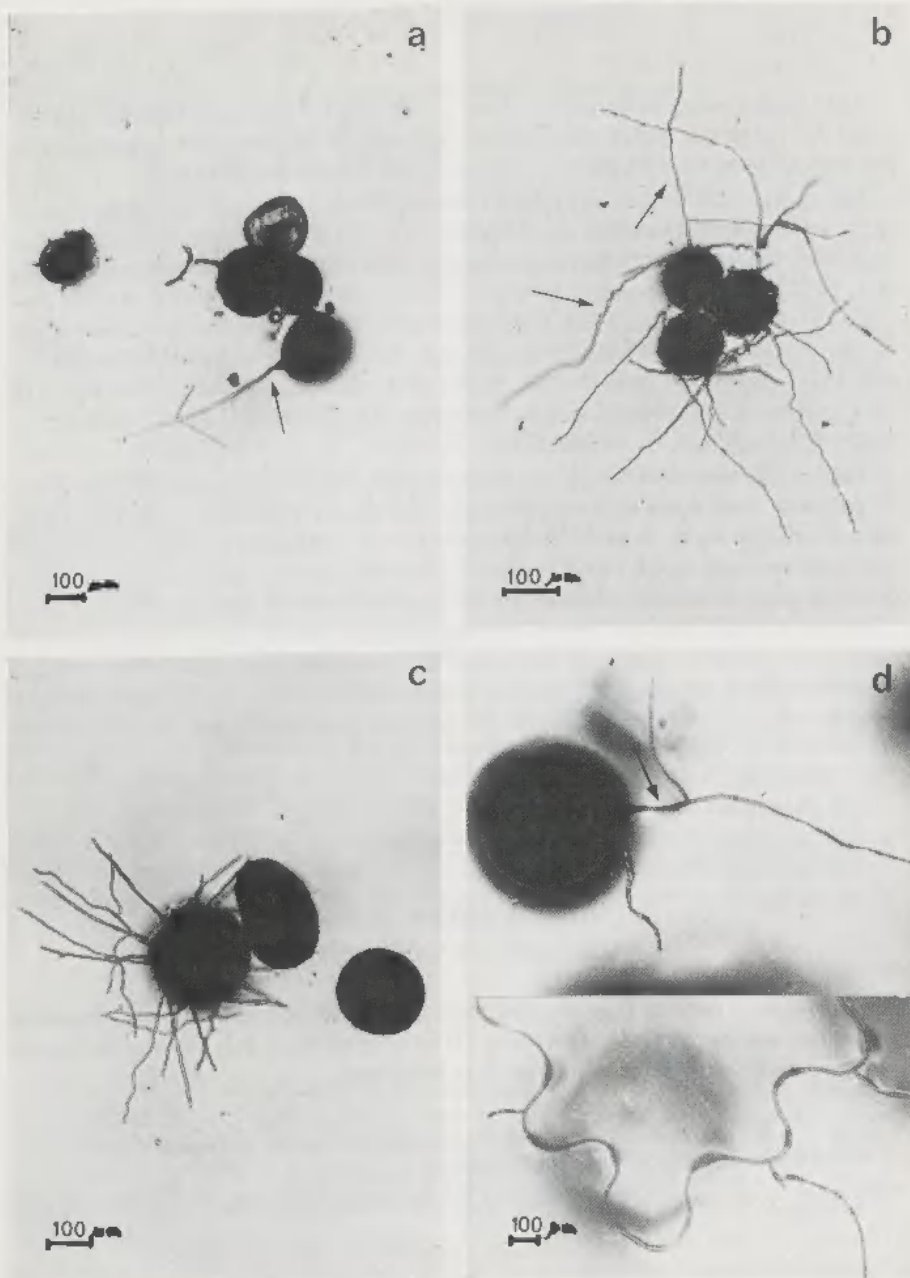


Planche 1 — Premiers stades de germination des spores de champignons endomycorhizogènes VA sur eau gélosée. a. *G. mosseae* : tube de germination en forme d'ancre émergeant de l'hyphe d'attachement (flèche). b. *G. epigaeus* : forme irrégulière des premières hyphes (flèches) se développant à partir des spores. c. *A. laevis* : hyphes multiples émergeant de la paroi d'une spore. d. *G. margarita* : en haut, hyphes émergeant de la paroi sporale (flèche) à côté de l'hyphe d'attachement; en bas, hyphe formant des méandres sur l'agar.

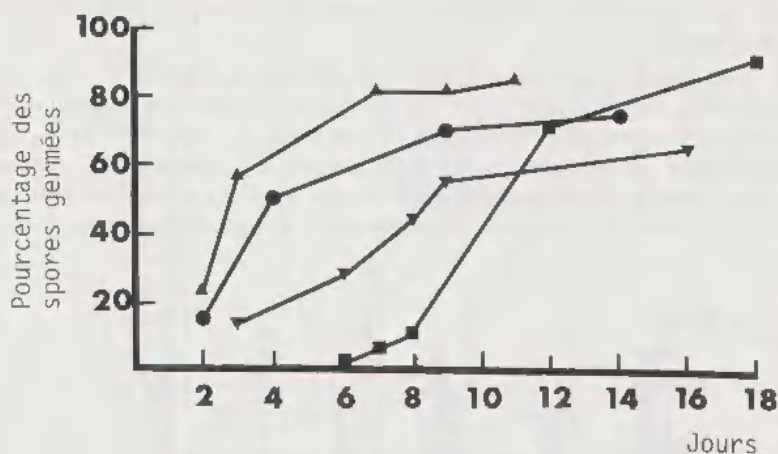


Figure 1. — Germination en fonction du temps, sur eau gélosée, des spores de (●) *G. mosseae*, (■) *G. epigaeus*, (▲) *G. margarita*, (▼) *A. laevis*.

Figure 1. — Germination with time on water agar of spores of (●) *G. mosseae*, (■) *G. epigaeus*, (▲) *G. margarita* and (▼) *A. laevis*.

La germination des spores de *G. mosseae*, *G. margarita* et *A. laevis* débute à partir de 2-3 jours à 24°C, tandis que les spores de *G. epigaeus* ne germent qu'à partir de 6-7 jours (Fig. 1). Dans la plupart de nos expériences, les spores de *A. laevis* étaient caractérisées par un taux de germination plus faible que celles de trois autres espèces et par conséquent nous n'avons pas étudié l'influence des modifications du milieu sur le comportement de ce champignon.

L'aspect des premiers stades de la germination sur eau gélosée de ces quatre espèces de champignons est très varié (Planche 1). Les tubes germinatifs de *G. mosseae* et *G. epigaeus* émergent de l'hyphe d'attachement (Planche 1a) qui les reliait au sporocarpie, tandis qu'ils émergent directement de la paroi sporale chez *G. margarita* et *A. laevis*. Les hyphes croissant sur le milieu ont également une forme particulière; pendant les trois premiers jours de la germination chez *G. mosseae*, les hyphes sont droites et se ramifient vers l'arrière en figurant une sorte «d'ancre»; chez *G. epigaeus*, les premières hyphes sont très irrégulières et présentent une succession de renflement et d'amincissements. Les hyphes d'*A. laevis* sont droites, celles de *G. margarita* poussent en formant des méandres à la surface de l'agar et s'enfoncent très vite dans celui-ci. Il est facile de dis-

Plate 1 — Early stages in spore germination by VA endomycorrhizal fungi on water agar.
 a. *G. mosseae* : anchor-shaped germ tube emerging from hyphal attachment. b. *G. epigaeus* : irregularly shaped hyphae (arrows) developing from spores. c. *A. laevis* : numerous hyphae emerging from the wall of a single spore. d. *G. margarita* : upper, hyphae emerging from spore wall (arrow) adjacent to the hyphal attachment; lower, wavy hyphal growth in agar.

tinguer ces espèces uniquement par la forme des hyphes au début de la germination (Planche 1).

De plus, après quatre à six jours ces différentes espèces de champignon peuvent produire des vésicules sur de courtes ramifications du mycélium. Elles sont soit sphériques et individuelles (*G. mosseae*, *G. epigaeus*, et *A. laevis*), soit sphériques et hérissées et groupées par 12 à 20 environ (*G. margarita*). Sur eau gélosée le développement ultérieur des hyphes est toujours plus important chez *G. margarita* que chez *G. mosseae* et *G. epigaeus* (Fig. 3, 5).

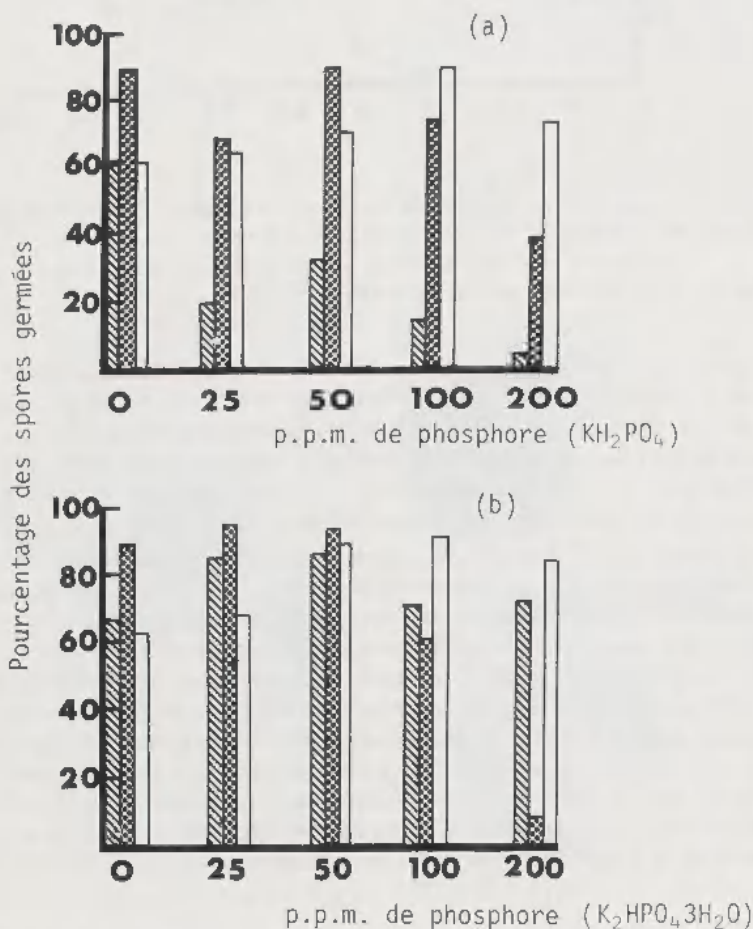


Figure 2. — Germination des spores de (▨) *G. mosseae*, (▩) *G. epigaeus* et (□) *G. margarita* en présence des concentrations croissantes en phosphore sous forme de (a) KH_2PO_4 ou (b) $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$.

Figure 2. — Germination of spores of (▨) *G. mosseae*, (▩) *G. epigaeus* and (□) *G. margarita* in presence of increasing concentrations of phosphorus in the form of (a) KH_2PO_4 and (b) $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$.

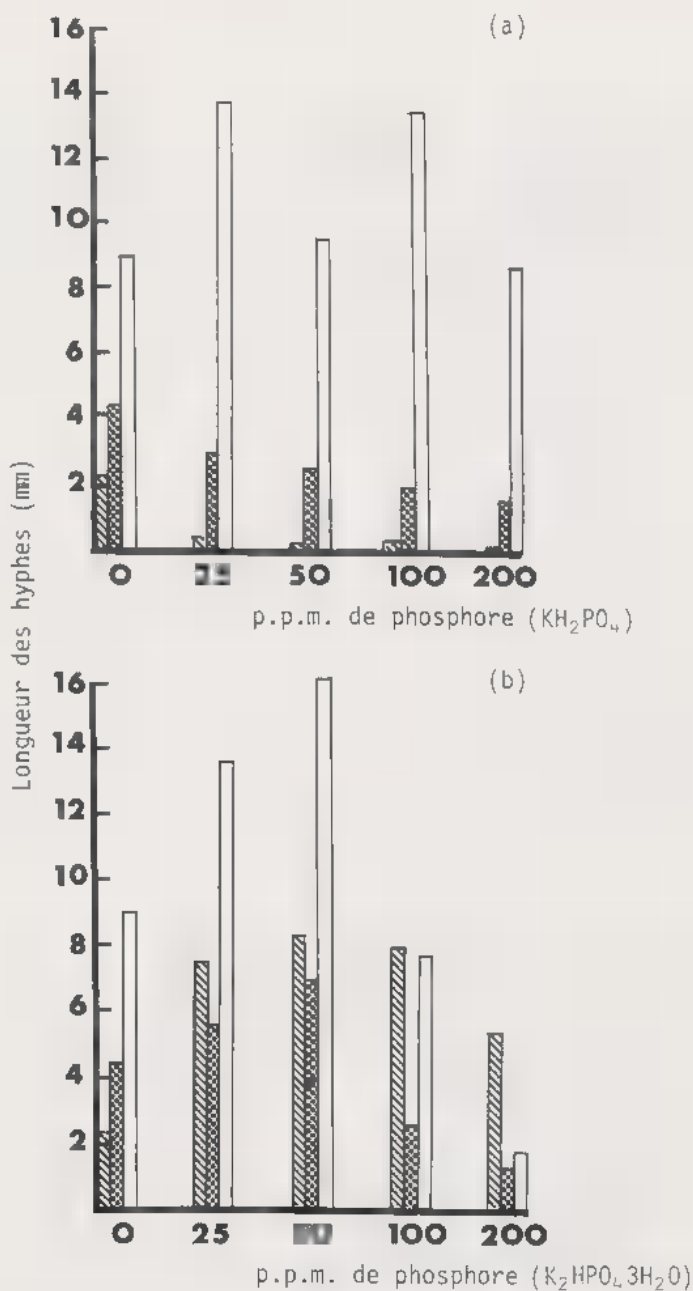


Figure 3. — Croissance des hyphes issues de spores de (▨) *G. mosseae*, (▩) *G. epigaeus* et (□) *G. margarita* placées sur des milieux à concentration croissante en phosphore sous forme de (a) KH₂PO₄ ou (b) K₂HPO₄·3H₂O.

Figure 3. — Growth of hyphae from spores of (▨) *G. mosseae*, (▩) *G. epigaeus* and (□) *G. margarita* in presence of increasing concentrations of phosphorus in the form of (a) KH₂PO₄ and (b) K₂HPO₄·3H₂O.

2. — EFFET DES MODIFICATIONS DU MILIEU SUR LA GERMINATION DES SPORES ET LE DÉVELOPPEMENT DES HYPHES

— Concentration en phosphore et potassium

Nous avons observé que les spores de *G. mosseae* germent toujours mieux sur les milieux contenant du K_2HPO_4 que sur ceux contenant du KH_2PO_4 (Fig. 2). Cette différence de comportement se manifeste dès les premiers stades de la germination (3 jours). En ce qui concerne *G. epigaeus*, les deux sels de phosphore (mono- et dipotassique) ont une influence semblable sur la germination des spores : les fortes concentrations (200 ppm en phosphore) des deux sels ont un effet significativement inhibiteur ($P < 0,05$).

Si nous considérons la croissance des hyphes de *G. mosseae* (Fig. 3), elle est comme la germination des spores beaucoup plus faible sur les milieux contenant du KH_2PO_4 que sur ceux additionnés de K_2HPO_4 ; il en est de même pour la croissance des hyphes de *G. epigaeus*, contrairement à la germination de ses spores. En présence de doses croissantes de K_2HPO_4 , le développement des hyphes de *G. mosseae* est amélioré, tandis que les hyphes de *G. epigaeus* voient leur croissance nettement inhibée par les fortes concentrations en phosphore (100 et 200 ppm).

Tableau 2 : Nombre moyen de tubes germinatifs par spore de *G. margarita* sur des milieux contenant des concentrations différentes en phosphore sous forme de KH_2PO_4 ou de $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$.

Table 2. — Average number of germ tubes produced per spore by *G. margarita* on agar media containing different concentrations of phosphorus as KH_2PO_4 or $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$.

	KH_2PO_4				K_2HPO_4				Témoin (eau gélosée)
ppm de phosphore :	25	50	100	200	25	50	100	200	
Expérience I :	1	1,3	1	1,8	0,5	1,8	9*	1,5	1,3
Expérience II :	1,3	1,9	1,8	2,8	1,8	3	7,7*	3,6	1,3

* Différence significative avec le témoin, $P < 0,05$.
Nombre de répétition : 12.

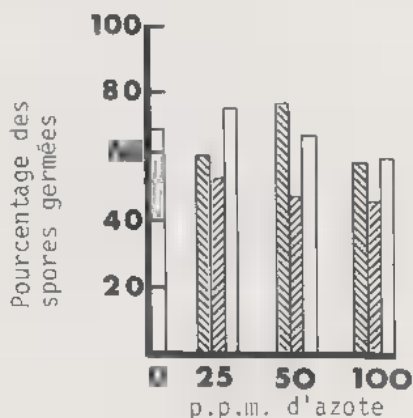
Dans le cas particulier de *G. margarita*, le comptage du taux de germination de spores donne les mêmes résultats sur les milieux contenant KH_2PO_4 ou K_2HPO_4 (Fig. 2). Cependant l'observation au microscope photonique révèle des comportements distincts de germination selon le type de sel phosphaté dans le milieu. A 100 ppm de phosphore sous forme de K_2HPO_4 , le nombre de tubes de germination augmente significativement (Tableau 2), alors qu'à 200 ppm la croissance de ces hyphes est minimale (Fig. 3); les hyphes se cloisonnent et meurent rapidement. Cet effet pourrait être dû aux concentrations plus élevées en potassium dans le milieu (505 ppm pour K_2HPO_4 par rapport à 252 ppm pour KH_2PO_4).

— Concentration en azote

Chez *G. margarita*, l'apport d'azote aux concentrations 25, 50, 100 ppm sous forme de KNO_3 , NH_4NO_3 et NH_4Cl ne modifie pas significativement le taux de germination par rapport au témoin (eau gélosée) et ne s'accompagne pas de perturbations du nombre de tubes germinatifs ni de leur aspect. Par contre chez *G. epigaeus*, le taux de germination diminue légèrement ($P < 0,05$) avec l'augmentation de la concentration en azote, mais uniquement quand ce dernier est présent sous forme combinée de nitrate d'ammonium (Fig. 4).

Figure 4. — Germination des spores de *G. epigaeus* en présence des concentrations croissantes en azote sous forme de (⊘) KNO_3 , (⊙) NH_4NO_3 , (□) NH_4Cl .

Figure 4. — Spore germination of *G. epigaeus* in presence of increasing concentrations of nitrogen in the form of (⊘) KNO_3 , (⊙) NH_4NO_3 and (□) NH_4Cl .



— pH

Les résultats obtenus sur l'influence du pH sur les différents champignons VA sont présentés dans la Figure 5. Ils mettent immédiatement en évidence la grande sensibilité de *G. mosseae* au pH du milieu ; la germination et la croissance des hyphes sont fortement inhibées à pH 5,8 ($P < 0,01$) alors qu'à pH 7,8, elles ne sont pas significativement différentes du témoin (pH 6,8). Cela explique les observations faites précédemment sur l'influence des deux sels phosphatés, les milieux contenant du KH_2PO_4 ont en effet un pH de 5,8 à 5,9 alors que ceux contenant du K_2HPO_4 ont un pH de 7,8 à 7,9. Chez *G. epigaeus*, cet effet est moins net ; il semble que les spores puissent germer et atteindre un pourcentage non significativement différent du témoin tant à pH 5,8 qu'à pH 7,5 et 7,8, bien que la germination diminue toujours à pH 6,2 et 6,8. Les raisons de cette diminution restent à déterminer. Cependant la croissance des hyphes de *G. epigaeus* est sensible au pH acide et elle est nettement meilleure à des pH neutres ou alcalins. Le cas de *G. margarita* doit être nuancé : en effet dans la Figure 5, on ne décèle pas une influence significative du pH sur la germination des spores et la croissance des hyphes. Toutefois, si nous prenons en considération le nombre de tubes germinatifs par spore ainsi que le nombre de ces tubes qui sont viables (c'est-à-dire non segmentés ; Fig. 6), nous remarquons

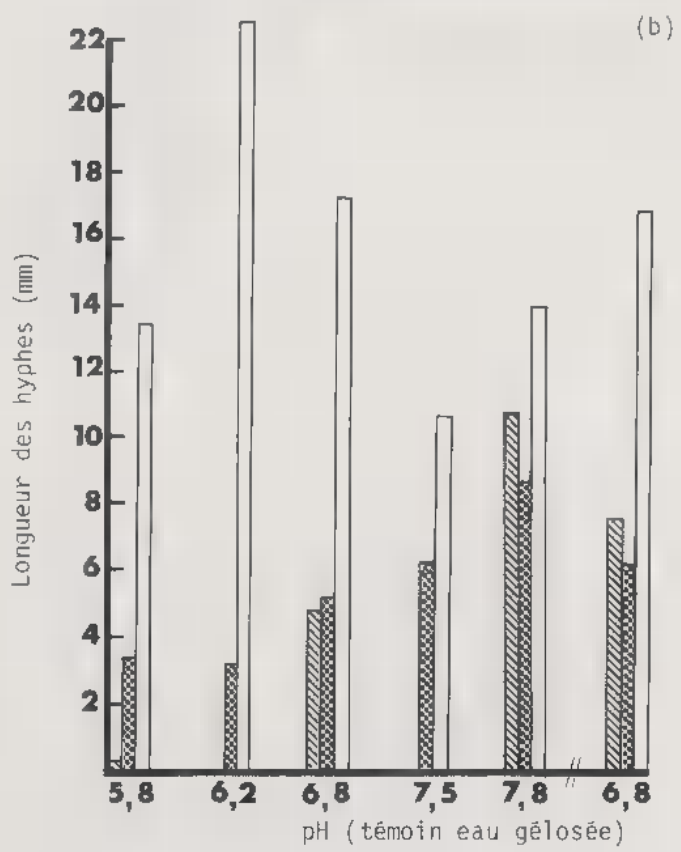
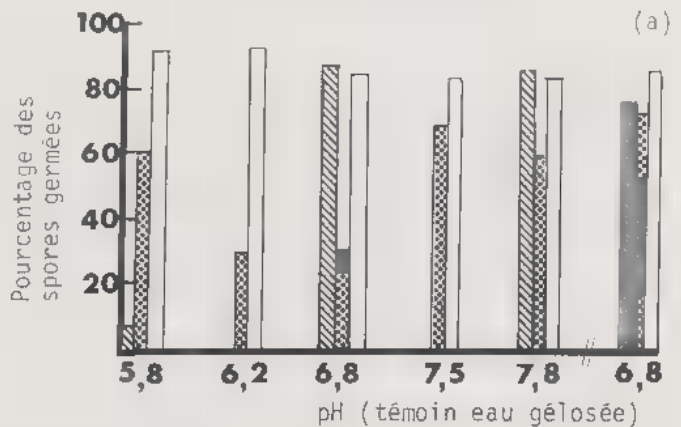


Figure 5. — Germination des spores (a) et croissance des hyphes (b) de (▨) *G. mosseae*, (▩) *G. epigaeus* et (□) *G. margarita* sur des milieux à pH différents.
 Figure 5. — Spore germination (a) and hyphal growth (b) of (▨) *G. mosseae*, (▩) *G. epigaeus* and (□) *G. margarita* on agar medium at different pHs.

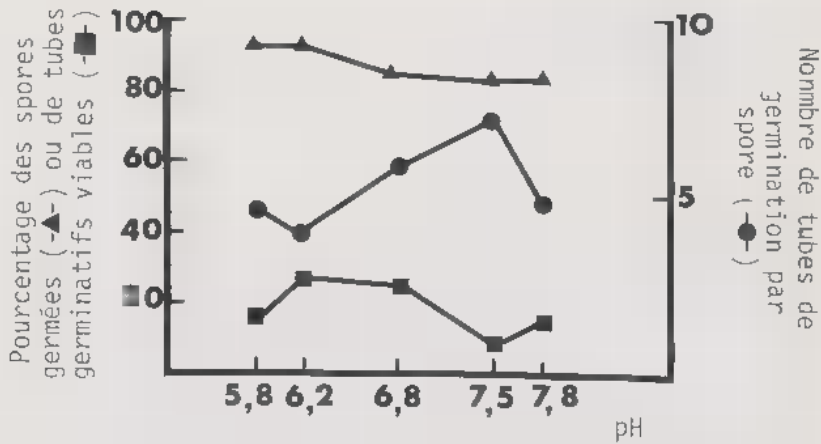


Figure 6. — Influence du pH du milieu sur (▲) la germination des spores, (●) le nombre de tubes de germination formés par chaque spore et (■) le pourcentage de tubes viables de germination chez *G. margarita*.

Figure 6. — Influence of pH on (▲) spore germination, (●) number of germ tubes formed per spore and (■) percentage of viable germ tubes of *G. margarita*.

qu'en général plus le nombre moyen de tubes germinatifs par spore est élevé, plus le pourcentage de tubes viables diminue; cet effet est maximal à pH 7,5. De plus les spores à germination multiple sont aussi celles pour lesquelles la croissance des hyphes est minimale sur le milieu gélosé.

Tableau 3. — Vitesse des courants cytoplasmiques dans les hyphes de *G. margarita* à différents pH ($\mu\text{m/s}$).

Table 3. — Effect of pH on cytoplasmic streaming ($\mu\text{m/s}$) in hyphae of *G. margarita*.

	Témoin ¹ (pH 6,8)	5,8 ²	6,2 ²	6,8 ²	7,5 ²	7,8 ²
vers l'apex	3,50	3,34	3,50	3,87	3,34	3,04*
vers la spore	3,05	3,72*	3,96*	3,90*	3,71*	4,18*

* Différence significative avec le témoin sans phosphore, $P < 0,05$.

Nombre de répétitions pour les témoins : 19 et les traitements entre 10 et 35.

1 : Eau gélosée, 2 : 50 ppm de phosphore.

Nous avons mesuré d'autre part la vitesse des courants cytoplasmiques dans les hyphes de *G. margarita* en fonction du pH du milieu (Tableau 3). Ces courants sont bidirectionnels, le courant revenant vers la spore est en général plus rapide. Le pH n'a pas d'effet sur ces courants cytoplasmiques, mais la présence

de 50 ppm de phosphore utilisés pour tamponner le milieu gélosé augmente sensiblement ($P < 0,05$) la vitesse des courants cytoplasmiques vers la spore, indépendamment du pH du milieu.

DISCUSSION

Dans le présent travail, nous avons pu mettre en évidence grâce au taux élevé de germination des spores de 3 des 4 champignons endomycorhizogènes VA étudiés, l'influence sur leur comportement de quelques facteurs du sol transposés ici en conditions aseptiques. Comme on pouvait s'y attendre, les champignons endomycorhizogènes VA montrent une variabilité non seulement au niveau du taux de germination de leurs spores, de la durée nécessaire pour que débute cette germination, et du développement général des hyphes, mais aussi au niveau de la sensibilité de ces processus vis-à-vis des différents facteurs du milieu tels que les éléments nutritifs (N, P, K) et le pH. Au niveau de la germination des spores, on observe que la concentration en phosphore du milieu n'a aucune influence sur le taux de germination de *G. margarita*. Par contre, la germination des spores est inhibée à des fortes concentrations (200 ppm) chez *G. epigaeus*; d'après les études de DANIELS & TRAPPE (1980) cet effet sur *G. epigaeus* est probablement atténué dans le sol. En ce qui concerne *G. mosseae*, on ne constate pas d'effet inhibiteur à toutes les concentrations de phosphore sous forme de K_2HPO_4 . Ces observations concordent avec celles faites par HEPPER (1983) qui a signalé que la germination des spores de *G. mosseae* n'est diminuée qu'à partir de 930 ppm de phosphore en solution dans le milieu. Toutefois, l'addition de phosphate soluble au milieu n'a aucun effet sur la germination de *G. mosseae* seulement si le pH est maintenu au-dessus de 6,8 et l'effet inhibiteur observé du KH_2PO_4 doit être attribué à l'acidification du milieu par l'addition de ce sel. En effet, la germination des spores de *G. mosseae* est très faible en milieu acide et optimale en milieu neutre ou alcalin; cette sensibilité au milieu acide des spores de *G. mosseae* avait été déjà soulignée par GREEN & al. (1976). Quant à la croissance des hyphes, nous constatons que celle-ci est inhibée comme pour la germination à des fortes concentrations de phosphore pour *G. epigaeus*, et que pour *G. mosseae* l'acidification du milieu en présence de KH_2PO_4 inhibe non seulement la germination des spores mais aussi la croissance des hyphes. Dans le cas de *G. margarita*, bien qu'on ne constate pas de modifications au niveau de la germination des spores, le nombre de tubes germinatifs formés ainsi que leur croissance sont modifiés en présence de concentrations élevées de K_2HPO_4 . L'influence particulière de ce sel sur le comportement de *G. margarita* n'est pas liée au pH du milieu car pour des concentrations identiques en phosphore la croissance des hyphes à pH 7,8 est comparable à celle à pH 5,8; par contre ces observations suggèrent pour la première fois la possibilité que certains champignons VA soient sensibles aux fortes concentrations en ions potassiques.

Ces travaux font aussi ressortir que l'apport de phosphore à raison de 50 ppm dans le milieu, qui ne modifie pas sensiblement la germination des spores et la croissance des hyphes, induit une augmentation importante (jusqu'à 37 %) de la vitesse en direction des spores des courants cytoplasmiques des hyphes de *G. margarita*. La signification physiologique de ce phénomène dans le transport du phosphore par les hyphes est à l'étude.

Ainsi non seulement le contenu en phosphore mais aussi le pH du milieu est un facteur important pour des champignons VA. Comme pour *G. mosseae*, les hyphes du *G. epigaeus* poussent mieux à pH élevé tandis que chez *G. margarita* l'augmentation du pH du milieu provoque une perturbation des processus de germination, en augmentant le nombre d'hyphes produites par chaque spore et en provoquant une mort plus rapide de ceux-ci. KOSKE (1982) suggère une possible relation entre la production élevée d'hyphes de germination de *G. margarita* et une plus forte probabilité d'infection de racines *in vitro*. Toutefois dans nos expériences récentes sur le trèfle *in vitro* (PONS & al. résultats non publiés) nous avons remarqué que l'infection rapide et massive des racines est possible à partir des spores n'ayant qu'une ou deux hyphes de germination.

Avec l'addition de différentes formes d'azote au milieu, seule la germination de *G. margarita* n'est pas modifiée alors que celle de *G. epigaeus* est diminuée lorsque l'azote est apporté sous forme de NH_4NO_3 à concentration de 100 ppm. L'insensibilité de la germination à des faibles taux de NH_4NO_3 avait été déjà soulignée par DANIELS & TRAPPE (1980) pour *G. epigaeus* et par SIQUEIRA & al. (1982) pour *G. margarita*.

En conclusion, cette étude réalisée sur le comportement des spores de champignons endomycorhizogènes VA démontre que les effets du milieu sont tout aussi importants sur la croissance des hyphes que sur la capacité des spores à germer. Cela montre la nécessité de prendre en considération ces deux aspects dans les études sur l'influence des facteurs du milieu sur le comportement des champignons endomycorhizogènes VA. De plus l'illustration par cette étude de la variabilité qu'on peut attendre de ces champignons, souligne davantage la nécessité de bien connaître l'influence des facteurs physico-chimiques du sol sur des phases successives du cycle de ces micro-organismes pour en assurer un meilleur contrôle dans la pratique culturale.

BIBLIOGRAPHIE

- ASIMI S., GIANINAZZI-PEARSON V. and GIANINAZZI S., 1979 — Influence of increasing soil phosphorus levels on interactions between vesicular-arbuscular mycorrhizae and *Rhizobium* in soybeans. *Can. J. Bot.* 58 : 2200-2205.
- BECKER W.N. and HALL I.R., 1976 — *Gigaspora margarita*, a new species in the Endogonaceae. *Mycotaxon* 4 : 155-160.
- DANIELS B.A. and GRAHAM S.O., 1976 — Effects of nutrition and soil extracts on germi-

- nation of *Glomus mosseae* spores. *Mycologia* 68 : 108-116.
- DANIELS B.A. and TRAPPE J.M., 1979 — *Glomus epigaeus* sp. nov., a useful fungus for vesicular-arbuscular mycorrhizal research. *Can. J. Bot.* 57 : 539-542.
- DANIELS B.A. and TRAPPE J.M., 1980 — Factors affecting spore germination of the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus, *Glomus epigaeus*. *Mycologia* 72 : 457-471.
- GERDEMANN J.W. and TRAPPE J.M., 1974 — The Endogonaceae in the Pacific Northwest. *Mycologia*, Memoir N° 5 : 76 p.
- GIANINAZZI S., GIANINAZZI-PEARSON V. et TROUVELOT A., 1982 — Les mycorrhizes, partie intégrante de la plante : biologie et perspectives d'utilisation. Les Colloques de l'INRA, 13, Paris, INRA, 397 p.
- GREEN N.E., GRAHAM S.O. and SCHENCK N.C., 1976 — The influence of pH on the germination of vesicular-arbuscular mycorrhizal spores. *Mycologia* 68 : 929-934.
- HEPPER C.M., 1983 — Effect of phosphate on germination and growth of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Trans. Br. mycol. Soc.* 80 : 487-490.
- KOSKE R.E., 1982 — Evidence for a volatile attractant from plant roots affecting germ tubes of a VA mycorrhizal fungus. *Trans. Br. mycol. Soc.* 79 : 305-310.
- MOSSE B., 1959 — The regular germination of resting spores and some observations on the growth requirements of an *Endogone* sp. causing vesicular-arbuscular mycorrhiza. *Trans. Br. mycol. Soc.* 42 : 273-286.
- MOSSE B., 1972 — The influence of soil type and *Endogone* strain on the growth of mycorrhizal plants in phosphate deficient soils. *Rev. Ecol. Biol. Sol.* 9 : 529-537.
- MOSSE B., 1978 — Mycorrhiza and plant growth. In : *Structure and functioning of plant populations*, A.H.J. FREYSEN & J.W. WOLDENDORP, North Holland Publishing Company : 269-297.
- SANDERS F.E. and TINKER P.B., 1973 — Phosphate flow into mycorrhizal roots. *Pestic. Sci.* 4 : 385-395.
- SIQUEIRA J.A., HUBBEL D.H. and SCHENCK N.C., 1982 — Spore germination and germ tube growth of a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *in vitro*. *Mycologia* 74 : 952-959.